

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN VIỆT NAM**

**TCVN 6226 : 1996**

**ISO 8192 : 1986 (E)**

**CHẤT LƯỢNG NƯỚC –  
THỬ SỰ ỨC CHẾ KHẢ NĂNG TIÊU THỤ OXI  
CỦA BÙN HOẠT HÓA**

*Water quality – Test for inhibition of  
oxygen consumption by activated sludge*

**HÀ NỘI – 1996**

## **Lời nói đầu**

TCVN 6226 : 1996 hoàn toàn tương đương với ISO 8192 : 1986 (E).

TCVN 6226 : 1996 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC 147 Chất lượng nước biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

## Chất lượng nước – Thử sự ức chế khả năng tiêu thụ oxi của bùn hoạt hóa

*Water quality – Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge*

**Cảnh báo và chú ý an toàn — Bùn hoạt hóa và nước cống có thể chứa nhiều sinh vật mầm bệnh tiềm tàng. Vì vậy phải hết sức thận trọng khi làm việc với chúng.**

**Phải cẩn thận khi làm việc với các chất dùng để thử độc tính và các chất chưa rõ bản chất.**

### 1 Phạm vi áp dụng

1.1 Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đánh giá tác dụng ức chế của một chất thử tới khả năng tiêu thụ oxi của các vi sinh vật trong bùn hoạt hóa. Tác dụng ức chế có thể bao gồm tác dụng tới sự hô hấp và sự dinh dưỡng.

1.2 Phương pháp này cung cấp thông tin về tác dụng ức chế hoặc kích thích của chất thử tới bùn hoạt hóa sau một thời gian tiếp xúc ngắn (khoảng dưới 180 min).

1.3 Phương pháp này có thể áp dụng cho các hóa chất tan được trong những điều kiện thử. Phải đặc biệt cẩn thận với những chất ít tan trong nước và những chất tiêu thụ hoặc sản ra oxi theo quá trình hóa lý.

Phụ lục A nêu hai thí dụ áp dụng. Phương pháp A nhằm trình bày những điều kiện trong nước mặt. Phương pháp B nhằm nêu những điều kiện trong các trạm xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học. Kết quả thu được từ hai phương pháp có thể khác nhau. Điều căn bản là phải nêu rõ trong báo cáo về phương pháp đã chọn.

Với các chất bay hơi chỉ có thể áp dụng thí dụ thứ nhất.

Phương pháp này cũng có thể dùng để thử nước thải.

#### Chú thích

- 1) Phải thận trọng khi thể hiện các kết quả thử với chất bay hơi, bởi vì chúng thường thấp do không luôn luôn duy trì được nồng độ ban đầu.
- 2) Cần thận trọng như vậy với kết quả thử chất khó tan. Tác dụng ức chế có thể bị thấp nếu độ tan của chất thay đổi theo môi trường thử.

1.4 Các kết quả thử ở đây chỉ được xem như một định hướng về độc tính của chất thử bởi vì bùn từ các nguồn khác nhau cũng khác nhau về thành phần và nồng độ vi khuẩn. Ngoài ra, phòng thí nghiệm không thể tạo ra những điều kiện giống như môi trường thực. Thí dụ như sự quen dần theo thời gian của các vi sinh vật trong bùn hoạt đối với chất thử, hoặc như chất thử có thể bị hấp thụ lên bùn hoạt hóa, và sau một thời gian, nồng độ của nó sẽ cao hơn so với nồng độ đem thử.

## 2 Định nghĩa

Tiêu chuẩn này áp dụng những định nghĩa sau:

2.1 Bùn hoạt hóa: sinh khối tích tụ được tạo ra trong xử lý nước thải do sự phát triển của vi khuẩn và vi sinh vật khác khi có oxy hòa tan. (Định nghĩa theo TCVN 5980 : 1995 (ISO 6107/1).

2.2 Chất rắn lơ lửng: chất rắn tách ra từ bùn hoạt hóa bằng cách lọc hoặc ly tâm và sấy khô ở khoảng 100 °C đến khối lượng không đổi. Chất rắn lơ lửng được xác định theo khối lượng khô trên đơn vị thể tích và được tính bằng gam trên lít hoặc miligam trên lít.

2.3 Tốc độ tiêu thụ oxy: lượng oxy bị tiêu thụ bởi các vi sinh vật trong bùn hoạt hóa trên đơn vị thể tích bùn trong đơn vị thời gian.

Đại lượng này được tính bằng miligam trên lít trên giờ.

2.4 Tốc độ tiêu thụ oxy riêng: lượng oxy bị tiêu thụ bởi các vi sinh vật trong bùn hoạt hóa trên đơn vị khối lượng vi sinh vật (chất rắn lơ lửng) trong đơn vị thời gian.

Đại lượng này được tính bằng miligam trên gam trong giờ.

2.5 Sự ức chế khả năng tiêu thụ oxy : sự giảm tốc độ tiêu thụ oxy của bùn hoạt hóa khi có mặt chất thử so với khi không có mặt chất thử.

Đại lượng này được tính bằng phần trăm.

2.6 Dây độc: dây nồng độ chất thử gây ra sự ức chế từ 0 đến 100 %.

2.7 EC50: Nồng độ hiệu dụng của chất thử gây ra sự ức chế (tính toán hoặc nội suy) 50 % khả năng tiêu thụ oxy so với thử trắng.

### 3 Nguyên tắc

Bùn hoạt hóa, khi có mặt một môi trường (nền) thích hợp và dễ bị phân hủy sinh học, sẽ tiêu thụ oxy với tốc độ phụ thuộc vào nồng độ vi sinh vật (và nhiều yếu tố khác nữa). Việc thêm một chất thử ở nồng độ gây độc có thể làm giảm tốc độ tiêu thụ oxy. Tốc độ này được đo bằng điện cực oxy. Sự ức chế được đánh giá bằng cách so sánh với hỗn hợp thử không chứa chất thử.

Độ nhạy của bùn hoạt hóa có thể được kiểm tra bằng một chất so sánh thích hợp. Bất kỳ một sự tiêu thụ oxy vô sinh do các quá trình hóa - lý đều có thể được phát hiện.

### 4 Môi trường và thuốc thử

#### 4.1 Đại cương

Hóa chất dùng để pha chế môi trường và thuốc thử đều phải là loại tinh khiết phân tích.

Nước cất hoặc nước trao đổi ion, không chứa các chất có thể ức chế sự tăng trưởng của vi sinh vật dưới mọi điều kiện thử.

Đo pH bằng máy đo pH, có hiệu chỉnh về nhiệt độ thử.

#### 4.2 Môi trường nhân tạo, dung dịch gốc (xem bảng 1).

**Bảng 1 — Môi trường nhân tạo**  
(100 lần nước cống pha chế theo OECD)

Thành phần	Lượng
Pepton	16 g
Nước thịt ép	11 g
Urê	3 g
Natri clorua (NaCl)	0.7 g
Canxi clorua (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	0.4 g
Magiê sunfat (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
Kali hidrophotphat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2.8 g
Nước	1000 ml

pH của dung dịch này phải là  $7,5 \pm 0,5$ .

Nếu môi trường pha chế không được dùng ngay thì phải bảo quản nó trong tối, ở 0 °C đến 4 °C không quá một tuần lễ, trong những điều kiện không làm thay đổi thành phần của nó.

Chú thích – Cũng có thể khử trùng môi trường trước khi cất giữ, hoặc chỉ pha pepton và nước thịt ép vào ngay trước khi dùng. Trước khi dùng phải bảo đảm môi trường được trộn đều và có pH cần thiết.

#### 4.3 Chất thử, dung dịch gốc

Chất thử có thể là hóa chất tinh khiết, hỗn hợp hóa chất, sản phẩm hóa học, hoặc nước thải.

Chuẩn bị một dung dịch gốc chất thử trong nước ở một nồng độ thích hợp, thí dụ 1 g/l hoặc 10 g/l. Nước thải có thể dùng ngay, không cần pha loãng.

Với các chất không tan, có thể chuẩn bị huyền phù hoặc thêm trực tiếp chất thử vào bình thử. Cần thận sao cho càng đồng thể càng tốt.

#### 4.4 Chất đối chiếu, dung dịch gốc

Hòa tan một lượng thích hợp chất đối chiếu trong nước. Dùng 1 g 3,5-diclophenol pha trong 1000 ml là thích hợp.

#### 4.5 Dung dịch đẳng trương (xem bảng 2).

**Bảng 2 — Dung dịch đẳng trương**

Thành phần	Lượng
Natri clorua (NaCl)	5 g
Magiê sunfat ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0,12 g
Nước	1000 ml

## 5 Xử lý mẫu bùn hoạt hóa

Nói chung, bùn hoạt hóa phải được lấy từ bể sục khí của trạm xử lý nước thải (chủ yếu là nước thải dân dụng) đang hoạt động bình thường. Tùy theo mục đích của sự thử, có thể dùng bất kỳ loại bùn hoạt hóa nào có nồng độ thích hợp, thí dụ từ 2 đến 4 g/l. Tuy nhiên, bùn hoạt hóa từ các trạm xử lý khác nhau có đặc tính và độ nhạy khác nhau.

Nếu có thể, sục khí cho bùn hoạt hóa và dùng trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy. Nếu không thể dùng ngay thì hàng ngày cần thêm nền thích hợp, thí dụ dùng môi trường nhân tạo (xem 4.2).

Nếu thấy cần, loại bỏ những hạt thô bằng cách để lắng trong một thời gian ngắn, thí dụ 15 min, rồi gạn lấy phần trên gồm những hạt mịn hơn. Cũng có thể dùng máy trộn để trộn bùn trong vài giây.

Nếu nghi rằng bùn có chứa sẵn chất ức chế thì có thể rửa nó như sau: ly tâm bùn khoảng 10 min. ở chùng 10000 m/s<sup>2</sup> và gạn bỏ phần trong. Hòa phần còn lại trong nước máy không clo hoặc dung dịch đẳng trương (4.5). Tiếp tục ly tâm và gạn bỏ phần trong. Nếu cần thì lặp lại nhiều lần. Xác định khối lượng khô của bùn. Cuối cùng, hòa mẫu vào nước máy không clo hoặc dung dịch đẳng trương để được bùn hoạt hóa có nồng độ thích hợp, thí dụ 3 g/l chất rắn lơ lửng.

Trong mọi trường hợp, phải nêu rõ nồng độ và mọi xử lý bùn hoạt hóa trong báo cáo kết quả.

## 6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Bình thử (như bình BOD) cỡ 300 ml, hoặc bình nón có nút (xem mục A.1), hoặc cốc dung tích 1000ml (xem mục A.2). Để đo nồng độ oxi trong bình BOD cần chuẩn bị một nút có lỗ khoan cắm vừa điện cực oxi. Để tránh chất lỏng tràn mất khi nhúng điện cực oxi vào dung dịch thì cắm trước một phễu hoặc một ống thủy tinh qua nút.

6.2 Thiết bị đo oxi : một điện cực oxi thích hợp và một bộ ghi (xem TCVN 5499 : 1995 ISO 5814), Chất lượng nước – Xác định oxi hòa tan – Phương pháp điện hóa).

6.3 Máy khuấy từ.

6.4 Thiết bị sục khí: nếu cần thì cho không khí đi qua một màng lọc thích hợp để ngăn bụi và dầu mỡ, sau đó cho đi qua một bình chứa nước để làm ẩm không khí. Sục khí bình thử bằng pipet Pasteur, hoặc bằng những thiết bị khác mà chúng không hấp thụ hóa chất.

## 7 Cách tiến hành

### 7.1 Đại cương

Cần tổ chức thử ở nơi nhiệt độ ổn định  $20 \pm 2$  °C và không khí không chứa bụi và các hơi độc.

### 7.2 Hỗn hợp thử

Chuẩn bị vào các bình thử (6.1) những hỗn hợp thử,  $F_T$ , gồm nước, môi trường nhân tạo và chất thử để được những nồng độ mong muốn. Điều chỉnh pH đến  $7,5 \pm 0,5$ , thêm bùn hoạt hóa và pha loãng bằng nước đến thể tích đã định. Nếu nghiên cứu sự phụ thuộc vào pH của tác dụng ức chế thì không điều chỉnh pH.

### 7.3 Hỗn hợp đối chiếu

Chuẩn bị những hỗn hợp,  $F_R$ , với chất đối chiếu giống như trên (xem 7.7).

#### 7.4 Thử trắng

Cần chuẩn bị ít nhất một dung dịch trắng, chứa cùng lượng bùn hoạt hóa và môi trường nhân tạo như hỗn hợp thử nhưng không có chất thử. Pha loãng bằng nước đến thể tích như hỗn hợp thử.

#### 7.5 Thử hóa – lý

Nếu thấy cần, chuẩn bị những hỗn hợp,  $F_{PC}$ , để đo sự tiêu thụ oxi hóa-lý. Những hỗn hợp này gồm môi trường nhân tạo, chất thử và nước như hỗn hợp thử nhưng không chứa bùn hoạt hóa. Nếu cần, có thể thêm chất ức chế sự tiêu thụ oxi sinh học, thí dụ thủy ngân clorua  $HgCl_2$ .

#### 7.6 Thử sơ bộ

Thử sơ bộ có ích cho việc ước lượng khoảng nồng độ chất thử trong phép thử chính thức.

Tiến hành thử sơ bộ với ít nhất ba nồng độ chất thử, thí dụ 1; 10 và 100 mg/l, một dung dịch trắng, và nếu cần, một dung dịch thử hóa-lý chứa chất thử ở nồng độ cao nhất. Nếu có thể, cần xác định nồng độ thấp nhất của chất thử không có hiệu ứng ức chế khả năng tiêu thụ oxi.

#### 7.7 Thử chính thức

Tiến hành thử với dãy nồng độ chất thử rút ra từ thử sơ bộ.

Cần thử ít nhất với năm nồng độ theo thang logarit và một dung dịch trắng. Không cần thử hóa-lý nếu thử sơ bộ cho thấy không có quá trình hóa-lý nào tiêu thụ oxi. Nếu ngược lại thì mỗi nồng độ chất thử phải được kèm một thử hóa-lý.

Độ nhạy của bùn hoạt hóa được thử bằng chất đối chiếu (thí dụ 3,5-diclophenol). Nên thử độ nhạy từng lô bùn, hoặc thử định kỳ nếu bùn lấy từ một nguồn.

#### 7.8 Xác định

Sục khí tất cả các hỗn hợp thử (7.2; 7.3; 7.4 và 7.5) để cho oxi gần như bão hòa.

Việc khuấy là cần thiết để đảm bảo trộn kỹ và cho phép đo oxi ổn định, chính xác.

Mọi hỗn hợp thử phải ở cùng nhiệt độ (thường là  $20 \pm 2$  °C), và nhiệt độ này không được thay đổi đáng kể trong khi thử.

Trong phương pháp A (xem A.1), nồng độ oxi trong mỗi hỗn hợp được đo bằng một điện cực oxi ở những khoảng thời gian thích hợp (ít nhất là đo năm lần trong vòng 3 h).

Trong phương pháp B (xem A.2), tốc độ giảm nồng độ oxi trong mỗi hỗn hợp được đo bằng một điện cực oxi sau khi sục khí 30 min, và nếu yêu cầu thì sau 3 h.

Chú ý không để các hỗn hợp quá bão hòa oxi.



Chú thích – Chọn thời gian 3 h là tùy ý. Thông thường, bùn hoạt hóa vẫn còn tiêu thụ oxy trong nước cống pha chế sau thời gian này.

## 8 Biểu thị kết quả

Tính tốc độ tiêu thụ oxy của các hỗn hợp thử từ phần thẳng của đồ thị nồng độ oxy -thời gian. Biểu diễn tốc độ tiêu thụ oxy bằng miligam trên lít trong giờ hoặc miligam trên gam trong giờ (chi tiết hơn, xem phụ lục A).

Sự ức chế khả năng tiêu thụ oxy,  $I$ , tính bằng phần trăm, đối với mỗi nồng độ chất thử, theo công thức:

$$I = \frac{R_B - (R_T - R_{PC})}{R_B} \times 100$$

trong đó

$R_T$  là tốc độ tiêu thụ oxy ở hỗn hợp thử,  $F_T$ ;

$R_B$  là tốc độ tiêu thụ oxy ở thử trắng,  $F_B$ ;

$R_{PC}$  là tốc độ tiêu thụ oxy ở thử hóa - lý,  $F_{PC}$ .

Vẽ đường biểu diễn sự ức chế khả năng tiêu thụ oxy -logarit nồng độ chất thử (đường cong ức chế). Trong phương pháp B (A.2), các đường cong ức chế được vẽ cho mỗi thời gian sục khí, thí dụ sau 30 min và 180 min. Từ đồ thị, tính hoặc nội suy nồng độ chất thử gây ra sự ức chế 50 % khả năng tiêu thụ oxy (EC50).

Nếu số liệu cho phép, có thể tính giới hạn tin cậy 95 % của EC50, độ dốc của đường biểu diễn và các giá trị ức chế đầu và cuối, thí dụ EC10 hoặc EC20; EC80 hoặc EC90.

Trong thực tế, nhiều trường hợp chỉ cần thể hiện kết quả dưới dạng ước lượng, thí dụ

EC50	< 1 mg/l
EC50	1-10 mg/l
EC50	10-100 mg/l
EC50	> 100 mg/l

## 9 Độ tin cậy của kết quả

Nếu có thể, hãy thử độ nhạy của bùn hoạt hóa bằng chất đối chiếu.

## TCVN 6226 : 1996

Trong một phép thử vòng dùng bùn hoạt hóa từ nước thải dân dụng, giá trị EC50 của 3,5-diclophenol được tìm thấy trong khoảng từ 5 đến 30 mg/l.

Nếu EC50 của chất đối chiếu nằm ngoài khoảng đã nêu, cần tiến hành thử lại với bùn hoạt hóa lấy từ nguồn khác.

### 10 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả cần có những thông tin sau:

- a) trích dẫn tiêu chuẩn này;
- b) phương pháp đã dùng (A hoặc B);
- c) tên, đặc điểm và bản chất của chất thử;
- d) nguồn, nồng độ và mọi xử lý của bùn hoạt hóa;
- e) nhiệt độ thử;
- f) tên chất so sánh và sự ức chế đo được với chất này (EC50);
- g) kiểm tra tiêu thụ oxi hóa-lý;
- h) kết quả thử, đặc biệt là EC50, và nếu có thể, các số liệu thống kê (xem điều 8);
- i) các số liệu đo và đường cong ức chế (xem điều 8);
- j) mọi hiện tượng khác với phương pháp tiêu chuẩn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

## Phụ lục A

(Qui định)

### Phương pháp thử

#### A.1 Phương pháp A – Dùng bùn hoạt hóa nồng độ thấp

Nồng độ bùn hoạt hóa trong hỗn hợp thử thấp (khoảng 100 đến 200 mg chất rắn lơ lửng trong lít). Các hỗn hợp thử chỉ được sục khí lúc bắt đầu thử.

Chuẩn bị các hỗn hợp thử sơ bộ theo bảng A.1.

Thí dụ một thiết bị đo theo phương pháp A trình bày trên hình A.1.

Cần giữ mọi dung dịch và tiến hành thử ở nhiệt độ không đổi, thí dụ  $20 \pm 2$  °C. Mọi dung dịch cần được bão hòa oxi trước khi chuẩn bị các hỗn hợp thử.

Chuẩn bị các hỗn hợp thử bằng cách cho vào bình thử khoảng 2/3 nước, chất thử (trừ  $F_B$ ) và môi trường nhân tạo.

Thêm bùn hoạt hóa vào từng bình thử (trừ  $F_{PC}$ ). Sục khí và trộn đều các bình thử lần lượt và cách nhau khoảng 5 min. Thêm nước vào đầy các bình thử, đậy kín và bắt đầu khuấy từ.

Sau 30 min., ngừng khuấy ở bình thứ nhất và mở nút. Nhúng điện cực oxi vào bình và lại bật ngay máy khuấy. Chờ đến khi cân bằng được thiết lập và đo nồng độ oxi hòa tan. Ngừng khuấy, lấy điện cực oxi ra (cả nút) và không để tạo bọt khí. Lại tiếp tục khuấy.

Làm đúng như vậy lần lượt với các bình thử còn lại, khoảng thời gian là 30 min. kể từ khi nạp bùn hoạt hóa đối với mỗi bình.

Lặp lại cách làm cứ 30 min một, cho đến hết ba giờ, hoặc cho đến khi nồng độ oxi hòa tan còn 1 mg/l.

Chú thích – Lượng bùn hoạt hóa cần lấy để thử sao cho nó gây ra sự giảm oxi hòa tan từ giá trị bão hòa 9 mg/l đến 1 mg/l trong ba giờ đối với thử trắng. Điều đó có thể thử trước và xác định nồng độ bùn hoạt hóa cuối cùng.

Với mỗi bình thử, vẽ một đồ thị nồng độ oxi hòa tan - thời gian. Tốc độ tiêu thụ oxi R, tính bằng miligam trên lít trong giờ, từ phần thẳng của đồ thị được biểu thị bằng công thức:

$$R = \frac{\rho_1 - \rho_2}{\Delta t} \times 60$$

TCVN 6226 : 1996

trong đó

$\rho_1$  là nồng độ oxi hòa tan, đo ở điểm đầu của đoạn đồ thị thẳng, tính bằng miligam trên lít;

$\rho_2$  là nồng độ oxi hòa tan, đo ở điểm cuối của đoạn đồ thị thẳng, tính bằng miligam trên lít;

$\Delta t$  là khoảng thời gian tương ứng, giữa  $\rho_1$  và  $\rho_2$ , tính bằng phút.

Phép thử chính thức cũng được làm giống thử sơ bộ. Cần dùng ít nhất năm nồng độ chất thử theo thang logarit. Thí dụ, một chất thử gây ra sự ức chế hoàn toàn ở nồng độ 100 mg/l và không ức chế ở 1 mg/l trong thử sơ bộ thì năm nồng độ thử thích hợp sẽ là 3,2; 5,6; 18; 32 và 56 mg/l.

Tùy theo thí nghiệm, cũng có thể dùng các kết quả thử sơ bộ cùng với kết quả thử chính thức để tính hoặc nội suy kết quả cuối cùng.

Toàn bộ dãy nồng độ dùng để tính toán như vậy sẽ là 1; 3. 2; 5,6; 10; 18; 32; 56 và 100 mg/l.

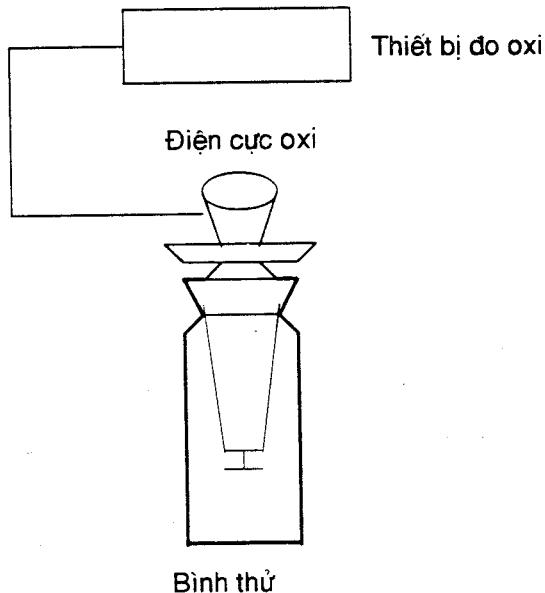
Nếu cần thiết thì thử độ nhạy của bùn hoạt hóa với chất đối chiếu, dùng cùng phương pháp như trên.

Tính toán và thể hiện kết quả như ở điều 8.

**Bảng A1 – Phương pháp A – Các hỗn hợp để thử sơ bộ**

Nồng độ dung dịch gốc các thuốc thử					
Dung dịch gốc chất thử	1 g/l				
Dung dịch gốc môi trường nhân tạo	Xem 4.2				
Bùn hoạt hóa	3 g chất rắn lơ lửng/lít				
Thành phần các hỗn hợp	Bình thử <sup>1)</sup>				
	$F_{T1}$	$F_{T2}$	$F_{T3}$	$F_{TB}$	$F_{PC}$
Dung dịch gốc chất thử, ml	0,3	3	30	0	30
Dung dịch gốc môi trường nhân tạo, ml	10	10	10	10	10
Bùn hoạt hóa, ml	10	10	10	10	0
Nước, ml	297,7	277	250	280	260
Thể tích toàn bộ các hỗn hợp, ml	300	300	300	300	300
Nồng độ trong các hỗn hợp					
Chất thử, mg/l	1	10	100	0	100
Bùn hoạt hóa, mg chất rắn lơ lửng/l	100	100	100	100	0

1) Dùng cùng phương pháp cho chất đối chiếu,  $F_{R1}$ ,  $F_{R2}$ ...



Hình A1 – Thí dụ một thiết bị đo theo phương pháp A

## A.2 Phương pháp B – Dùng bùn hoạt hóa nồng độ cao

Nồng độ bùn hoạt hóa trong hỗn hợp thử cần khoảng 1500 mg chất rắn lơ lửng trong 1 lít. Các hỗn hợp thử được sục khí trong suốt thời gian thử. Tiến hành đo sự tiêu thụ oxi sau khi thêm bùn 30 min. Nếu cần thông tin ở khoảng thời gian dài hơn thì có thể đo sau khi thêm bùn 3 h.

Chuẩn bị các hỗn hợp thử sơ bộ theo bảng A2, trong các bình thử dung tích khoảng 1000 ml.

Mọi dung dịch và nơi tiến hành thử cần có nhiệt độ không đổi, thí dụ  $20 \pm 2$  °C.

Chuẩn bị các hỗn hợp thử bằng cách cho vào bình thử khoảng hai phần ba nước, chất thử (trừ  $F_B$ ), và môi trường nhân tạo. Mỗi bình thử đều có khuấy từ.

Thêm bùn hoạt hóa vào từng bình thử (trừ  $F_{PC}$ ), lần lượt và cách nhau khoảng 10 min. Lập tức thêm nước cho đủ 500ml.

Sục khí hỗn hợp và cho chạy khuấy từ.

Sau 30 min bắt đầu đo nồng độ oxi hòa tan. Lấy một phần hỗn hợp từ bình thử thứ nhất và đo tốc độ tiêu thụ oxi.

Cho phần hỗn hợp lấy ở bình thử vào đây một bình BOD có trang bị khuấy từ. Nhúng điện cực oxi (có nút) vào bình BOD và khởi động máy khuấy từ. Đo và ghi nồng độ oxi hòa tan trong 5 đến 10 min., hoặc đo đến khi nồng độ oxi giảm xuống dưới 1 mg/l. Sau đó lấy điện cực ra, trả phần hỗn hợp vào bình thử của nó và tiếp

tục sục khí, khuấy. Cũng làm như vậy với các bình thử khác theo thứ tự, và như vậy sẽ thu được một dãy kết quả đối với mọi hỗn hợp thử ở thời điểm 30 min. sau khi thêm bùn. Nếu cần thông tin về thời gian dài hơn thì đo ở 180 min. sau khi thêm bùn.

Một cách khác là không dùng bình BOD mà lấy khoảng 20 ml hỗn hợp vào một bình đo hình trụ, có trang bị sẵn điện cực oxi và máy khuấy từ. Trong trường hợp này, giảm thể tích hỗn hợp thử đến khoảng 200 ml. Sau khi đo xong, bỏ phần hỗn hợp trong bình đo. Trước khi đo hỗn hợp mới, phải tráng bình đo bằng nước máy. Thí dụ một thiết bị đo như vậy được nêu trên hình A2.

Tốc độ tiêu thụ oxi R, tính bằng miligam trên lít trên giờ, có thể được tính hoặc nội suy từ phần thẳng của đồ thị biểu diễn sự giảm nồng độ oxi, theo công thức:

$$R = \frac{\rho_1 - \rho_2}{\Delta t} \times 60$$

trong đó

$\rho_1$  là nồng độ oxi ở điểm đầu của phần thẳng, tính bằng miligam trên lít;

$\rho_2$  là nồng độ oxi ở điểm cuối của phần thẳng, tính bằng miligam trên lít;

$\Delta t$  là khoảng thời gian tương ứng giữa  $\rho_1$  và  $\rho_2$ , tính bằng phút.

Tiến hành thử chính thức giống như thử sơ bộ. Chi tiết về nồng độ chất thử xem ở A.1.

**Bảng A2 – Phương pháp B – Các hỗn hợp để thử sơ bộ**

Nồng độ dung dịch gốc các thuốc thử	Bình thử <sup>1)</sup>				
	F <sub>T1</sub>	F <sub>T2</sub>	F <sub>T3</sub>	F <sub>B</sub>	F <sub>PC</sub>
Dung dịch gốc chất thử	1 g/l				
Dùng dịch gốc môi trường nhân tạo	Xem 4.2				
Bùn hoạt hóa	3 g chất rắn lơ lửng/lít				
Thành phần các hỗn hợp					
Dung dịch gốc chất thử, ml	0,5	5	50	0	50
Dùng dịch gốc môi trường nhân tạo, ml	16	16	16	16	16
Bùn hoạt hóa, ml	250	250	250	250	0
Nước, ml	233,5	229	184	234	434
Thể tích toàn bộ các hỗn hợp, ml	500	500	500	500	500
Chất thử, mg/l	1	10	100	0	100
Bùn hoạt hóa, mg chất rắn lơ lửng / l	1500	1500	1500	1500	0

1) Dùng cùng phương pháp cho chất so sánh, F<sub>R1</sub>, F<sub>R2</sub>...

